

CFE 3621 US(1/2)

094242/2003

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 3 月 3 1 日
Date of Application:

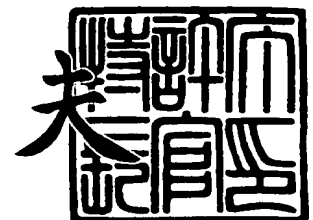
出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 0 9 4 2 4 2
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 0 9 4 2 4 2]

出 願 人 キヤノン株式会社
Applicant(s):

2 0 0 4 年 4 月 1 9 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号 出証特 2 0 0 4 - 3 0 3 2 8 0 2

【書類名】 特許願

【整理番号】 252927

【提出日】 平成15年 3月31日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 33/00

【発明の名称】 生化学反応カートリッジ

【請求項の数】 1

【発明者】

【住所又は居所】 東京都大田区下丸子三丁目 3 0 番 2 号 キヤノン株式会社
社内

【氏名】 沼尻 泰幸

【特許出願人】

【識別番号】 000001007

【氏名又は名称】 キヤノン株式会社

【代表者】 御手洗 富士夫

【代理人】

【識別番号】 100075948

【弁理士】

【氏名又は名称】 日比谷 征彦

【電話番号】 03-3852-3111

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 013365

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9703876

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 生化学反応カートリッジ

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 チャンバ・流路を含む反応部分と、該反応部分と隔離又は別体にして前記チャンバと対応する位置に溶液を蓄える溶液貯蔵部分とを有し、該溶液貯蔵部分から溶液を前記反応部分のチャンバに移動させるために、前記溶液貯蔵部分と前記反応部分との間に貫通可能な仕切部材を設けたことを特徴とする生化学反応カートリッジ。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、検体中の細胞、微生物、或いは染色体、核酸などを、抗原抗体反応や核酸ハイブリダイゼーション反応などの生化学反応を利用して分析する装置に組み込んで用いる生化学反応カートリッジに関するものである。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

血液等の検体の分析装置の多くは、抗原抗体反応を利用した免疫学的方法、又は核酸ハイブリダイゼーションを利用した方法を用いている。このような分析方法の例を挙げると、被検出物質と特異的に結合する抗体又は抗原などのタンパク質或いは一本鎖の核酸をプローブとして使い、微粒子、ビーズ、ガラス板などの固相表面に固定し、被検出物質と抗原抗体反応又は核酸ハイブリダイゼーションを行わせる。

【0 0 0 3】

そして、酵素、蛍光性物質、発光性物質などの検知感度の高い標識物質を担持した特異的な相互作用を持つ標識化物質、例えば標識化抗体や標識化抗原又は標識化核酸などを用いて、抗原抗体化合物や二本鎖の核酸を検出して、被検物質の有無を検出又は被検物質の定量を行うものである。

【0 0 0 4】

これらの技術を発展させたものとして、米国特許 5, 4 4 5, 9 3 4 号公報には、互いに異なる塩基配列を有する多数の DNA（デオキシリボ核酸）プローブを基板上にアレイ状に並べた所謂 DNA アレイが記載されている。また、Anal. Biochem.、270(1)、103-111、1999 には、多種類のタンパク質をメンブレンフィルタ上に並べ、DNA アレイのような構成のタンパク質アレイの作製方法が開示されている。そして、DNA アレイ、タンパク質アレイなどによって、極めて多数の項目の検査を一度に行うことが可能になってきている。

【0 0 0 5】

また、様々な検体分析方法において、検体による汚染の軽減、反応の効率化、装置の小型化、作業の簡便化などの目的で、内部で必要な反応を行う使い捨ての生化学反応カートリッジも提案され、特表平 1 1 - 5 0 9 0 9 4 号公報には、DNA アレイを含む生化学反応カートリッジ内に複数のチャンバを配し、差圧によって溶液を移動させ、カートリッジ内部で検体中の DNA の抽出或いは増幅、又はハイブリダイゼーションなどの反応を可能とした生化学反応カートリッジが開示されている。

【0 0 0 6】

生化学反応カートリッジでの試薬の供給方法として、特開 2 0 0 0 - 2 6 6 7 5 9 号公報には使い捨ての分析カセットに外部の試薬ボトルから試薬を供給することが開示されており、特表平 1 1 - 5 0 9 0 9 4 号公報にはチャンバ内に試薬を前もって内蔵することの開示がある。

【0 0 0 7】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、外部から試薬を供給する場合には、生化学反応カートリッジとは別に複数の試薬を用意しなければならず、更に検査項目が多いと必要な試薬の種類も多くなり、補充が煩わしくなるだけでなく、試薬の種類を間違える虞れがある。また、生化学反応カートリッジのチャンバに試薬を内蔵するものでは、保存・運搬時の環境変化や運搬時の振動などによって、チャンバ内の試薬が流路や他のチャンバに流れ込んで、意図する反応と異なる反応を起こす可能性がある。

【0 0 0 8】

本発明の目的は、上述の問題点を解消し、試薬の補充の煩わしさ、試薬の種類の違いを解消し、かつ保存・運搬時の環境変化や振動でもチャンバ内の試薬が流路や他のチャンバに流れ込むことのない生化学反応カートリッジを提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するための本発明に係る生化学反応カートリッジは、チャンバ・流路を含む反応部分と、該反応部分と隔離又は別体にして前記チャンバと対応する位置に溶液を蓄える溶液貯蔵部分とを有し、該溶液貯蔵部分から溶液を前記反応部分のチャンバに移動させるために、前記溶液貯蔵部分と前記反応部分との間に貫通可能な仕切部材を設けたことを特徴とする。

【0010】

【発明の実施の形態】

本発明を図示の実施の形態に基づいて詳細に説明する。

図1は本実施の形態における生化学反応カートリッジの斜視図を示している。カートリッジは反応が行われる反応部分1と、その上に配置され試薬・洗浄剤などの溶液を貯蔵する溶液貯蔵部分2の2層構造とされている。反応部分1と溶液貯蔵部分2の本体は、ポリメタクリル酸メチル（PMMA）、アクリルニトリル-ブタジエーン-スチレン（ABS）共重合体、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリエステル、ポリ塩化ビニルなどの合成樹脂で構成されている。反応物についての光学的な測定を行う場合は、反応部分1には透明又は半透明のプラスチックが必要になる。

【0011】

反応部分1の上部には、注射器を用いて血液等の検体を注入する検体入口3が設けられ、この検体入口3はゴムキャップにより封止されている。また、反応部分1の両側面には、反応部分1内の溶液を移動するために、ノズルを挿入して加圧或いは減圧を行うための複数のノズル入口4が設けられ、これらのノズル入口4はゴムキャップにより封止され、反対側の面も同じ構成になっている。

【0012】

また、溶液貯蔵部分 2 の上部には、後述する溶液貯蔵チャンバの上部を塞ぐための 3 枚のアルミ箔シート 5 が貼り付けられている。そして、反応部分 1 と溶液貯蔵部分 2 は超音波により溶着されている。なお、反応部分 1 と溶液貯蔵部分 2 は別体の構成にして、使用時に重ね合わせるようにすることもできる。

【0 0 1 3】

図 2 は図 1 の溶液貯蔵部分 2 の平面断面図を示し、溶液が入った独立したチャンバ 6 a ～ 6 m が設けられ、チャンバ 6 a、6 b にはそれぞれ細胞壁を壊す E D T A を含む第 1 の溶血剤、界面活性剤などのタンパク質変性剤を含む第 2 の溶血剤が蓄積されている。チャンバ 6 c には DNA が吸着するシリカコーティングされた磁性体粒子が蓄積され、チャンバ 6 l、チャンバ 6 m には、DNA の抽出の際に DNA の精製を行うために用いる第 1、第 2 の抽出洗浄剤が蓄積されている。

【0 0 1 4】

チャンバ 6 d には DNA を磁性体粒子から溶出する低濃度塩のバッファから成る溶出液、チャンバ 6 g には P C R で必要なプライマ、ポリメラーゼ、d N T P 溶液、バッファ、蛍光剤を含む C y - 3 d U T P などの混合液が充填されている。チャンバ 6 h、6 j には、ハイブリダイゼーションしなかった蛍光標識付きの検体 DNA と蛍光標識とを洗浄するための界面活性剤を含む洗浄剤、チャンバ 6 i には後述する DNA マイクロアレイを含むチャンバ内を乾燥させるためのアルコールが蓄積されている。そして、各チャンバ 6 a ～ 6 m には後述するシートを貫通するための尖った弁棒 7 a ～ 7 m が付設されている。

【0 0 1 5】

図 3 は生化学反応カートリッジの保存時の状態を示した断面図であり、溶液が入った溶液貯蔵部分 2 のチャンバ 6 には切欠き 8 を持つ弁棒 7 が挿入され、2 個の O リング 9 により保持されている。溶液チャンバ 6 の下部はアルミ箔シート 1 0 により塞がれ、チャンバ 6 と反応部分 1 のチャンバ 1 1 間には空気が出入りにできないようにするシール材 1 2 が介在されている。環境による溶液、空気の体積変化や圧力の変化は、アルミ箔シート 1 0 の変形で吸収できるようにされており、不時にチャンバ 6 の溶液が反応部分 1 に浸入することはない。

【0016】

図4は検査者が血液等の液体状の検体を検体入口3から注入し、後述する処理装置にセットしてから、工具用ニードル13の短い押圧棒13aを用いて1段目に弁棒7を押し込んで、アルミ箔シート10を破り、溶液がチャンバ6からチャンバ11に移動を始めた状態である。この状態では、弁棒7に設けた切欠き8は2個のOリング9の上下につながっているため、チャンバ6内と外部とで空気が通じ溶液は円滑に移動することができる。

【0017】

このように、仕切部材として貫通可能なアルミ箔シート10を有しているため、工具用ニードル13の押圧棒13aを反応部分1側に押し込むだけで、工具用ニードル13が触れることなく、極めて簡単に溶液をチャンバ6からチャンバ11内に流し込むことができる。なお、本実施の形態では、溶液貯蔵部分2のチャンバの位置の真下に反応部分1の対応するチャンバが位置しているが、流路を形成するなどして対応するチャンバが真下になくても支障はない。

【0018】

次に、検査者は工具用ニードル13を一旦抜き取り、図5に示すように逆さにして長い側の押圧棒13bによる2段目の押し込みによって、更に弁棒7を押し下げる。すると、上側のOリング9により空気は密閉され、後述する反応部分1内での溶液の移動が可能になる。検査者はこの工程を全てのチャンバ6a～6mに対して行う。このように、工具用ニードル13を用いて1段目の押し込みで溶液を流し込み、2段目の押し込みにより密閉できるので、押し込みという簡単な動作だけで、溶液のチャンバ11への流し込み、密閉という2つの作業が同時に実行できる。

【0019】

図6は反応部分1の平面断面図である。片側の側面には10個のノズル入口4a～4jが設けられ、反対側の側面にも10個のノズル入口4k～4tが設けられている。各ノズル入口4a～4tは空気が流れる空気流路14a～14tを介して、溶液を貯蔵する場所或いは反応を起こす場所であるチャンバ11a～11tに連通している。ただし、ノズル入口4n、4p、4q、4sは本実施の形態

の工程では使用しないので、チャンバに連通しておらず予備になっている。

【0020】

つまりは、ノズル入口 4 a ~ 4 j は流路 14 a ~ 14 j を介してチャンバ 11 a ~ 11 j に連通して、反対側のノズル入口 4 k、4 l、4 m、4 o、4 r、4 t は、それぞれ流路 14 k、14 l、14 m、14 o、14 r、14 t を介して、チャンバ 11 k、11 l、11 m、11 o、11 r、11 t に連通している。

【0021】

そして、検体入口 3 はチャンバ 16 に連通され、チャンバ 11 a、11 b、11 c、11 k はチャンバ 16 に、チャンバ 11 g、11 o はチャンバ 17 に、チャンバ 11 h、11 i、11 j、11 r、11 t はチャンバ 18 に連通している。更に、チャンバ 16 は流路 19 を介してチャンバ 17 に、チャンバ 17 は流路 20 を介してチャンバ 18 に連通している。流路 19 にはチャンバ 11 d、11 e、11 f、11 l、11 m が、それぞれ流路 15 d、15 e、15 f、15 l、15 m を介して連通している。

【0022】

また、チャンバ 18 の底面には角孔が明けられ、この角孔にガラス基板で作製された DNA マイクロアレイ 21 が、プローブ面を上にして貼り付けられている。DNA マイクロアレイ 21 には、1 インチ四方程式のガラス板等の固相表面に、異なる種類の DNA プローブが数 10 ~ 数 10 万種高密度に並べられている。この DNA マイクロアレイ 21 を用いて検体 DNA とハイブリダイゼーション反応を行うことによって、一度に数多くの遺伝子の検査ができる。また、これらの DNA プローブはマトリックス状に規則正しく並んでおり、それぞれの DNA プローブのアドレス（何行・何列）を情報として、容易に取り出せるという利点がある。検査の対象となる遺伝子としては、感染症ウイルス・細菌、疾患関連遺伝子の他に各個人の遺伝子多型等がある。

【0023】

反応部分 1 のチャンバ 11 a、11 b には、それぞれ溶液貯蔵部分 2 のチャンバ 6 a、6 b から流れた第 1 の溶血剤、第 2 の溶血剤が蓄積されている。チャンバ 11 c には、チャンバ 6 c から流れた磁性体粒子が蓄積され、チャンバ 11 l

、チャンバ 11 m には、それぞれチャンバ 6 l、チャンバ 6 m から流れた第 1、第 2 の抽出洗浄剤が蓄積されている。チャンバ 11 d には、チャンバ 6 d から流れた溶出液、チャンバ 11 g には、チャンバ 6 g から流れた PCR (Polymerase Chain Reaction) で必要な混合液が充填されている。チャンバ 11 h、11 j には、それぞれチャンバ 6 h、6 j から流れた洗浄剤、チャンバ 11 i には、チャンバ 6 i から流れたアルコールが蓄積されている。

【0024】

なお、チャンバ 11 e は血液の DNA 以外の塵埃が溜まるチャンバ、チャンバ 11 f はチャンバ 11 l、11 m の第 1、第 2 の抽出洗浄剤の廃液が溜まるチャンバ、チャンバ 11 r は第 1、第 2 の洗浄剤の廃液が溜まるチャンバであり、チャンバ 11 k、11 o、11 t は溶液がノズル入口に流れ込まないために設けたブランクのチャンバである。

【0025】

図 7 は生化学反応カートリッジ内での溶液の移動や種々の反応を制御する処理装置である。テーブル 22 は生化学反応カートリッジをセットする場所であり、テーブル 22 上には、カートリッジ内で検体からの DNA などを抽出する際に作動させる電磁石 23、検体からの DNA を PCR などの方法で増幅させる際に温度制御するためのペルチェ素子 24、増幅した検体 DNA とカートリッジ内部にある DNA マイクロアレイ上の DNA プローブとの間でハイブリダイゼーションを行う際と、ハイブリダイゼーションしなかった検体 DNA の洗浄を行う際に温度制御するためのペルチェ素子 25 が配置され、これらは処理装置全体を制御する制御部 26 に接続されている。

【0026】

図 7 のテーブル 22 の上下には、電動シリンジポンプ 27、28 と、これらのポンプ 27、28 により空気を吐出或いは吸引を行う出入口で複数のポンプノズル 29、30 を片側 10 個ずつ設けたポンプブロック 31、32 が配置されている。また、制御部 26 は検査者が入力を行う入力部 33 に接続されている。

【0027】

電動シリンジポンプ 27、28 とポンプノズル 29、30 の間には、図示しな

い複数の良く知られた電動切換バルブが配置され、ポンプ 27、28 と共に制御部 26 に接続されている。制御部 26 により、片側 10 個のうち 1 個ずつのポンプノズル 29、30 を選択的にポンプ 27、28 に対して開にしたり、全てのポンプノズル 29、30 を閉にしたりする制御が可能とされている。

【0028】

溶液を溶液貯蔵部分 2 から反応部分 1 に移動して、処理の開始信号を入力すると、反応部分 1 の内部で DNA などの抽出、増幅が行われ、増幅した検体 DNA と反応部分 1 の内部にある DNA マイクロアレイ上の DNA プローブとの間でハイブリダイゼーションと、ハイブリダイゼーションしなかった蛍光標識付きの検体 DNA と蛍光標識の洗浄とが行われる。

【0029】

本実施の形態では、血液を検体とし検査者が注射器により検体入口 2 のゴムキャップを貫通させて血液を注入すると、血液はチャンバ 16 に流れ込む。その後に、検査者は生化学反応カートリッジをテーブル 22 に置き、図示しないレバーを操作して、図示しない機構によりポンプブロック 31、32 を図 7 の矢印の方向に移動させると、ゴムキャップを貫通してポンプノズル 29、30 が反応部分 1 のノズル入口 4 に挿入される。

【0030】

図 6 で説明したように、ノズル入口 4 が生化学反応カートリッジの両側の 2 つの面に集中しているので、電動シリンジポンプ 27、28、電動切換バルブ、ポンプノズル 29、30 を内蔵したポンプブロック 31、32 の形状、配置が単純になる。更に、必要なチャンバや流路を確保しながら、ポンプブロック 31、32 でカートリッジを同時に挟み込むという単純な動作だけで、ポンプノズル 29、30 を挿入することができ、ポンプブロック 31、32 の構成も簡単なものになる。そして、ノズル入口 4 a ~ 4 t を全て同じ高さ、即ち直線状に配置すると、ノズル入口 4 a ~ 4 t に接続する流路 14 a ~ 14 t の高さが全て同じになり、流路 14 a ~ 14 t の作製が容易になる。

【0031】

また、図 7 の処理装置で、n 個の生化学反応カートリッジ用にポンプブロック

31、32をn倍に長くした構成にすれば、n個のカートリッジを直列に並べることによって、n個のカートリッジに対して必要な工程を同時に行うことができ、構成は極めて簡単ながら多数のカートリッジに対して生化学反応を行わせることができる。

【0032】

検査者は図4、図5で説明した溶液の流し込みと密閉の工程を行い、次に入力部33で処理開始の命令を入力すると処理が始まる。勿論、装置側にロボットアームを設け、弁棒7をこのロボットアームに取り付けて、図4、図5で説明した工程を自動的に行ってもよく、この場合は後述する方法と同様に電動シリンジポンプ27、28を作動させて、円滑に溶液を流し込むことができる。更に、本実施の形態のように、生化学反応カートリッジの使用直前に流し込みの工程を行うのではなく、溶液が必要になる直前に個々の溶液を流し込むことも可能である。

【0033】

図8は本実施の形態の処理装置における処理手順を説明するフローチャート図である。先ずステップS1で、制御部26はノズル入口4a、4kのみを開にし、電動シリンジポンプ27から空気を吐出し、ポンプ28から空気を吸引してチャンバ11aの第1の溶血剤を血液の入ったチャンバ16に流し込む。このときに、溶血剤の粘性や流路の抵抗によるが、ポンプ28からの空気の吸引を、ポンプ27からの空気の吐出開始10～200m秒後に開始するように制御すると、流れる溶液の先頭で溶液が飛び出すことがなく溶液が円滑に流れる。

【0034】

このように、空気の供給、吸引のタイミングをずらして、加圧、減圧を制御すれば溶液を円滑に流すことができるが、電動シリンジポンプ28からの空気の吸引を、ポンプ27からの空気の吐出開始時からリニアに増加させるなど、細かな制御を行えば、更に円滑に流すことが可能になる。また、加圧と減圧の両方を用いることで反応部分1内に発生する圧力を軽減することができ、この結果、溶液の移動の途中に溶液を流し込みたくない分岐流路やチャンバがある場合に、そこに流れ込むことを防ぐという効果もある。以下の溶液の移動についても同様である。

【0035】

空気の供給の制御は、電動シリンジポンプ27、28を用いることで容易に実現でき、ノズル入口4a、4oのみを開にし、シリンジポンプ27、28で空気の吐出、吸引を交互に繰り返し、チャンバ6の溶液を流路19に流してその後に戻す動作を繰り返して攪拌を行う。或いは、ポンプ28から空気を連続的に吐出し、気泡を発生させながら攪拌してもよい。

【0036】

図9は図6のチャンバ11a、チャンバ16、チャンバ11kを通る反応部分1の断面図であり、ノズル入口4aにポンプノズル29が挿入されて加圧され、ノズル入口4kにポンプノズル30が挿入されて減圧され、チャンバ11aの第1の溶血剤が血液の入ったチャンバ16に流れ込む様子を示している。チャンバ11aは実際は溶液貯蔵部分2と連通しているが、便宜上、天井を設けて連通していない図としている。

【0037】

図8において、次のステップS2でノズル入口4b、4kのみを開にし、同様にしてチャンバ11bの第2の溶血剤をチャンバ16に流し込み、ステップS3ではノズル入口4c、4kのみを開にし、同様にしてチャンバ11cの磁性体粒子をチャンバ16に流し込む。ステップS2、S3共に、ステップS1と同様にして攪拌を行う。ステップS3では、磁性体粒子にステップS1、S2で細胞が溶解して出てきたDNAが磁性体粒子に付着する。

【0038】

そして、ステップS4で電磁石23をオンにし、ノズル入口4e、4kのみを開にし、電動シリンジポンプ28から空気を吐出し、ポンプ27から空気を吸引して、チャンバ16の溶液をチャンバ11eに移動すると、この移動の際に磁性体粒子とDNAが流路19の電磁石23の上で捕捉される。電動シリンジポンプ27、28の吸引、吐出を交互に繰り返し、溶液をチャンバ16、11e間を2回往復させてDNAの捕捉効率を高める。更に回数を増やすと、捕捉効率は一層高まるが、処理時間が余分にかかることになる。

【0039】

このように、磁性体粒子を利用してDNAを、幅1～2mm程度、高さ0.2～1mm程度の小さい流路上で、しかも流れている状態で捕捉するので、極めて効率良く捕捉することができる。捕捉ターゲット物質がRNA或いはタンパク質の場合も同様である。

【0040】

次に、ステップS5で電磁石23をオフにし、ノズル入口4f、4lのみを開にし、電動シリンジポンプ28から空気を吐出し、ポンプ27から空気を吸引してチャンバ111の第1の抽出洗浄液をチャンバ11fに移動する。このとき、ステップS4で捕捉された磁性体粒子とDNAが抽出洗浄液と共に移動して洗浄が行われる。ステップS4と同様にして2回往復した後に電磁石23をオンにし、同様にして2回往復させて磁性体粒子とDNAを流路19の電磁石23の上に回収し、溶液をチャンバ111に戻しておく。

【0041】

ステップS6で、ノズル入口4f、4mを用いてチャンバ11mの第2の抽出洗浄液に対して、ステップS5と同じ工程を行って更に洗浄する。ステップS7では電磁石23をオンにしたまま、ノズル入口4d、4oのみを開にし、電動シリンジポンプ27から空気を吐出し、ポンプ28から空気を吸引して、チャンバ11dの溶出液をチャンバ17に移動する。

【0042】

このとき、溶出液の作用によって磁性体粒子とDNAが分離し、DNAのみが溶出液と共にチャンバ17に移動し、磁性体粒子は流路19に残り、このようにしてDNAの抽出、精製が行われる。抽出洗浄液が入ったチャンバ111、11mと洗浄後の廃液が入るチャンバ11fを用意することにより、生化学反応カートリッジ1内でDNAの抽出、精製を行うことが可能になる。

【0043】

次に、ステップS8でノズル入口4g、4oのみを開にし、電動シリンジポンプ27から空気を吐出し、ポンプ28から空気を吸引して、チャンバ11gのPCR用薬剤をチャンバ17に流し込む。更に、ノズル入口4g、4tのみを開にし、電動シリンジポンプ27、28で空気の吐出、吸引を交互に繰り返し、チャ

ンバ16の溶液を流路20に流して、その後に戻す動作を繰り返して攪拌を行う。そして、ペルチェ素子24を制御して、チャンバ17内の溶液を96℃の温度に10分保持した後に、96℃・10秒、55℃・10秒、72℃・1分の工程を30回繰り返し、溶出されたDNAにPCRを行って増幅する。

【0044】

ステップS9では、ノズル入口4g、4tのみを開にし、電動シリンジポンプ27から空気を吐出し、ポンプ28から空気を吸引して、チャンバ17の溶液をチャンバ18に移動する。更に、ペルチェ素子25を制御して、チャンバ18内の溶液を45℃で2時間保ってハイブリダイゼーションを行う。このとき、ポンプ27、28で空気の吐出、吸引を交互に繰り返し、チャンバ18の溶液を流路15tに移動し、その後に戻す動作を繰り返して攪拌しながら、ハイブリダイゼーションを進める。

【0045】

次にステップS10で、同じ45℃を保持したまま、今度はノズル入口4h、4rのみを開にし、電動シリンジポンプ27から空気を吐出し、ポンプ28から空気を吸引して、チャンバ18内の溶液をチャンバ11rに移動しながら、チャンバ11hの第1の洗浄液をチャンバ18を通してチャンバ11rに流し込む。ポンプ27、28の吸引、吐出を交互に繰り返し、溶液をチャンバ11h、18、11r間を2回往復させ、最後にチャンバ11hに戻す。このようにして、ハイブリダイゼーションしなかった蛍光標識付きの検体DNAと蛍光標識とが洗浄される。

【0046】

図10は図6のチャンバ11h、チャンバ18、チャンバ11rを通る断面図であり、ノズル入口4hにポンプノズル29が挿入されて加圧され、ノズル入口4rにポンプノズル30が挿入されて減圧され、チャンバ11hの第1の洗浄液がチャンバ18を通して、チャンバ11rに流れ込む様子を示している。チャンバ11hは実際は溶液貯蔵部分2と連通しているが、便宜上、天井を設けて連通していない図としている。

【0047】

図 8 において、ステップ S 11 では同じ 45℃を保持したまま、ノズル入口 4 j、4 r を用いてチャンバ 11 j の第 2 の洗浄液に対して、ステップ S 10 と同じ工程を行って更に洗浄し、最後にチャンバ 11 j に戻す。このように洗浄液が入ったチャンバ 11 h、11 j と洗浄後の廃液が入るチャンバ 11 r を用意しているので、生化学反応カートリッジ内で DNA マイクロアレイ 21 の洗浄を行うことが可能になる。

【0048】

ステップ S 12 では、ノズル入口 4 i、4 r のみを開にし、電動シリンジポンプ 27 から空気を吐出し、ポンプ 28 から空気を吸引して、チャンバ 11 i のアルコールをチャンバ 18 を通してチャンバ 11 r に移動する。その後、ノズル入口 4 i、4 t のみを開にし、ポンプ 27 から空気を吐出し、ポンプ 28 から空気を吸引して、チャンバ 18 内を乾燥させる。

【0049】

この後に、検査者が図示しないレバーを操作すると、図示しない機構によりポンプブロック 31、32 は生化学反応カートリッジから離れる方向に移動し、ポンプノズル 29、30 がカートリッジのノズル入口 4 から外れる。そして、検査者はこのカートリッジを、図示しない良く知られたスキャナなどの DNA マイクロアレイ用読取装置に挿入して測定、解析を行う。

【0050】

本発明の実施の形態の幾つかを、次に列挙する。

【0051】

[実施の形態 1] チャンバ・流路を含む反応部分と、該反応部分と隔離又は別体にして前記チャンバと対応する位置に溶液を蓄える溶液貯蔵部分とを有し、該溶液貯蔵部分から溶液を前記反応部分のチャンバに移動させるために、前記溶液貯蔵部分と前記反応部分との間に貫通可能な仕切部材を設けたことを特徴とする生化学反応カートリッジ。

【0052】

[実施の形態 2] 前記仕切部材は弁棒による押し込みにより貫通可能とした実施の形態 1 に記載の生化学反応カートリッジ。

【 0 0 5 3 】

〔実施の形態 3〕 前記仕切部材に対する工具用ニードルによる前記弁棒に対する 1 段目の押し込みで、前記チャンバが外部に対して開となって前記溶液貯蔵部分の溶液が前記のチャンバに移動し、2 段目の押し込みで前記チャンバが外部に対して密封される実施の形態 2 に記載の生化学反応カートリッジ。

【 0 0 5 4 】

〔実施の形態 4〕 前記仕切部材は 2 つの長さの異なる押圧棒を備え、前記 1 段目の押し込みは短い押圧棒を使用し、前記 2 段目の押し込みは長い押圧棒を使用する実施の形態 3 に記載の生化学反応カートリッジ。

【 0 0 5 5 】

〔実施の形態 5〕 前記長さの異なる 2 つの押圧棒は同一軸線上に反対方向に向けて配置した実施の形態 4 に記載の生化学反応カートリッジ。

【 0 0 5 6 】**【発明の効果】**

以上説明したように本発明に係る生化学反応カートリッジは、チャンバ・流路を含む反応部分と、反応部分と隔離されて或いは反応部分と別体で試薬・洗浄剤などの溶液を蓄える溶液貯蔵部分とを有し、溶液を溶液貯蔵部分から反応部分に移動するために隔離している部材が貫通できる又は溶液貯蔵部分と反応部分とを接触させてそれらの壁面が貫通できる部材で構成され、必要なときに溶液を生化学反応カートリッジ内に準備できるので、試薬の補充の煩わしさ、試薬の種類の間違いを軽減し、かつ保存・運搬時の環境変化や振動でもチャンバ内の試薬が流路や他のチャンバに流れ込むことがなく、意図する反応を正しく起こさせ得るという利点がある。

【図面の簡単な説明】**【図 1】**

実施の形態の生化学反応カートリッジの斜視図である。

【図 2】

溶液貯蔵部分の平面断面図である。

【図 3】

保存時の生化学反応カートリッジの一部断面図である。

【図 4】

弁棒を 1 段押し込んだ状態の生化学反応カートリッジの一部の断面図である。

【図 5】

弁棒を 2 段押し込んだ状態の生化学反応カートリッジの一部断面図である。

【図 6】

反応部分の平面断面図である。

【図 7】

本実施形態の生化学反応カートリッジ内での溶液の移動や種々の反応を制御する処理装置のブロック構成図である。

【図 8】

処理手順のフローチャート図である。

【図 9】

図 6 の一部のチャンバの断面図である。

【図 10】

図 6 の一部のチャンバの断面図である。

【符号の説明】

- 1 反応部分
- 2 溶液貯蔵部分
- 3 検体入口
- 4 ノズル入口
- 5、10 アルミ箔シート
- 7 弁棒
- 8 切欠き
- 9 Oリング
- 11、16～18 チャンバ
- 13 工具用ニードル
- 15、19、20 流路
- 21 DNAマイクロアレイ

2 2 テーブル

2 6 制御部

2 7、2 8 電動シリンジポンプ

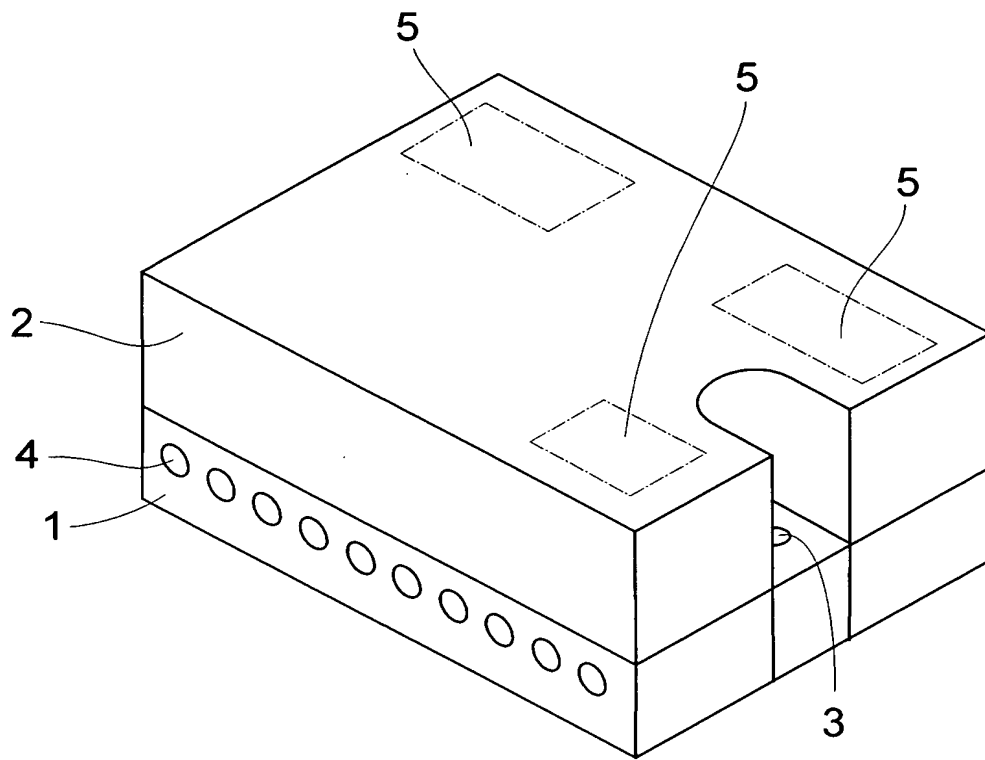
2 9、3 0 ポンプノズル

3 1、3 2 ポンプブロック

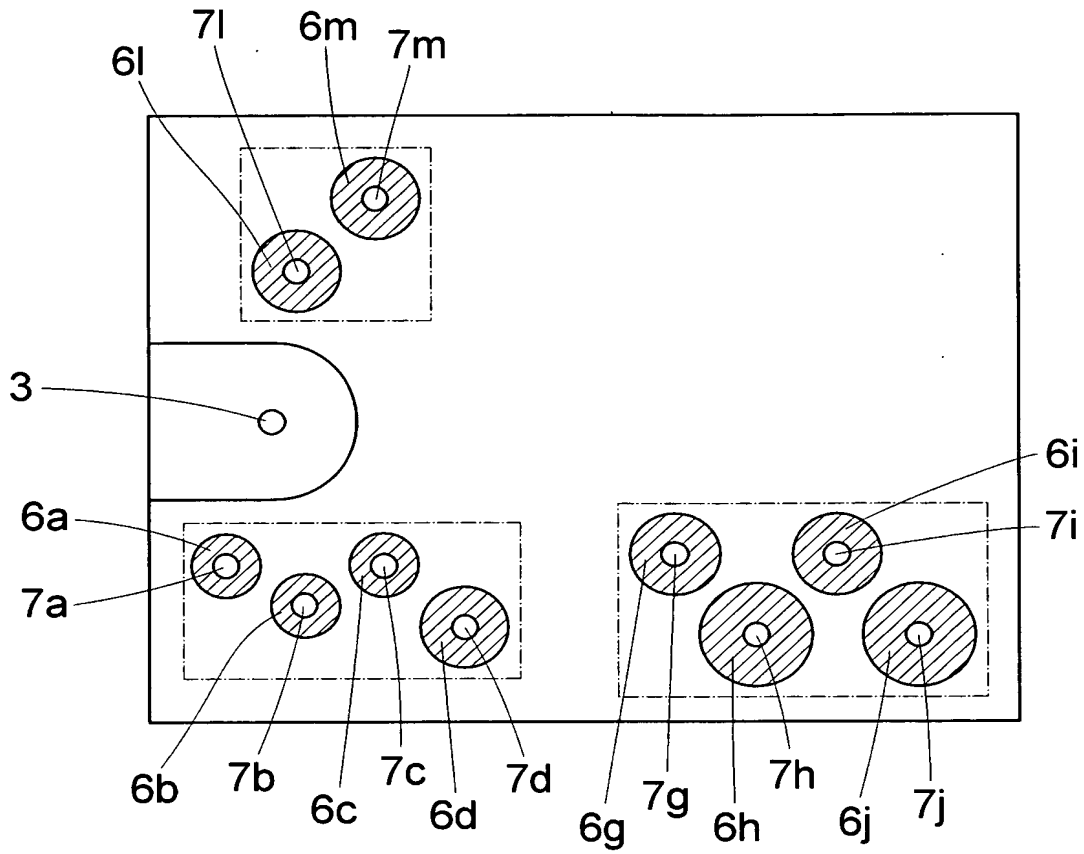
【書類名】

図面

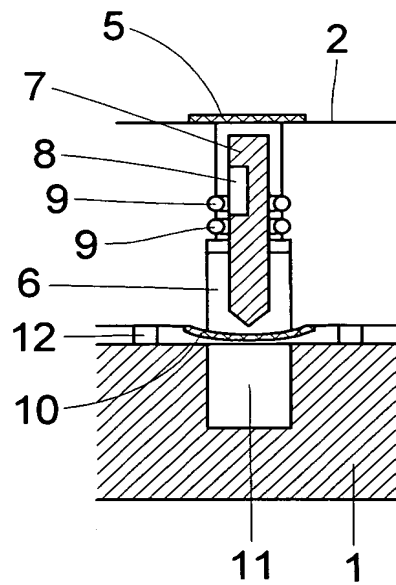
【図 1】



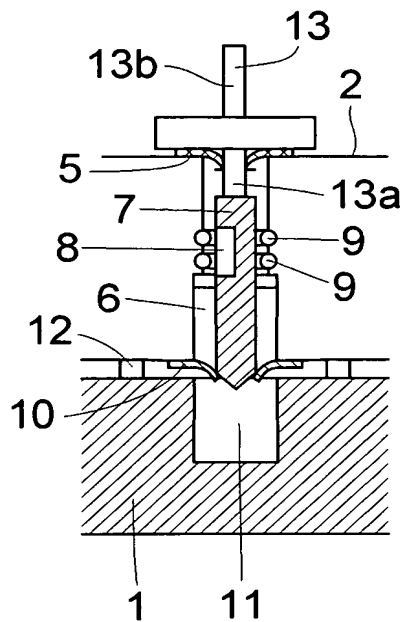
【図 2】



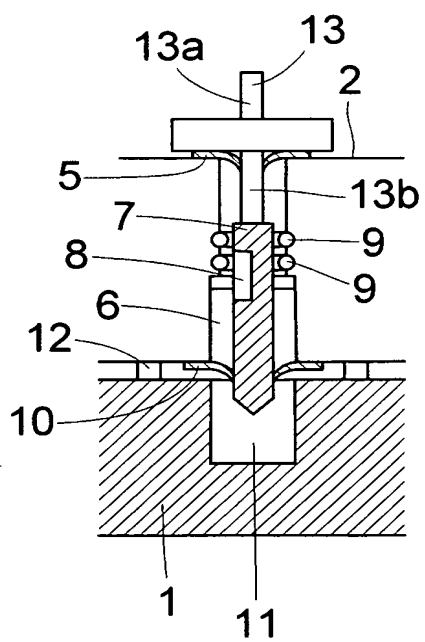
【図 3】



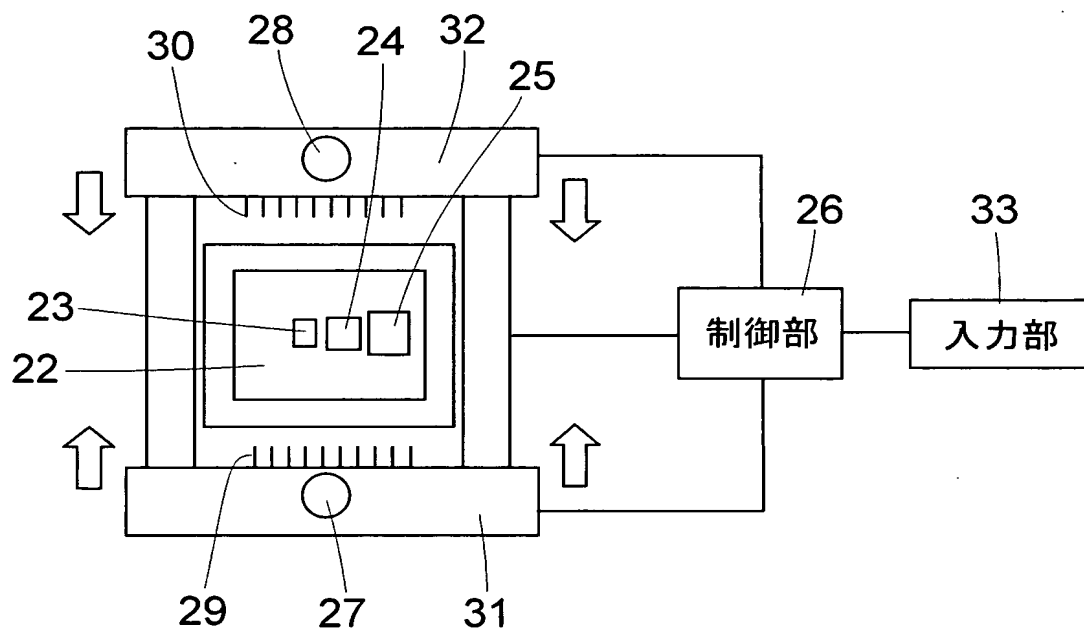
【図 4】



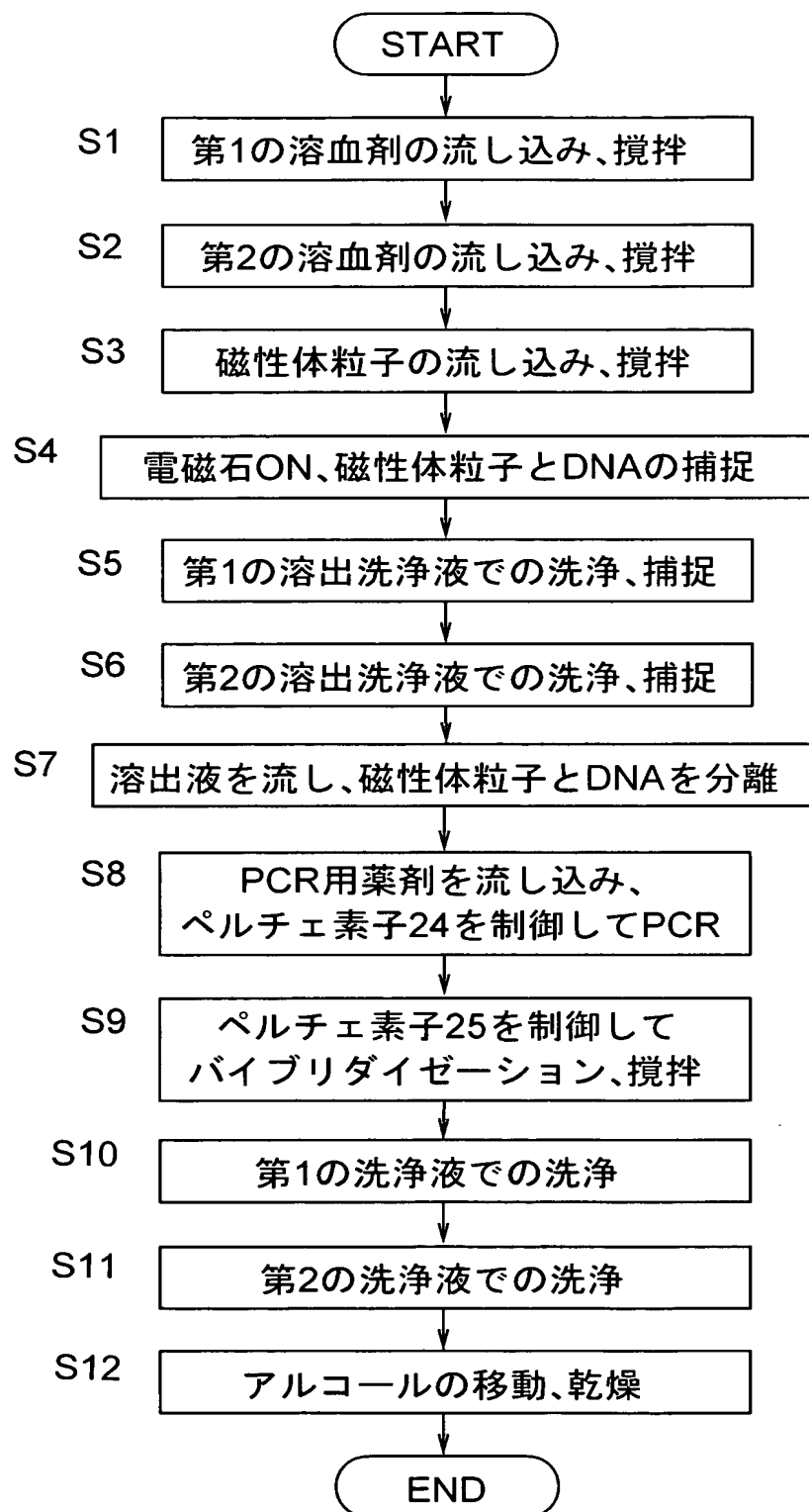
【図 5】



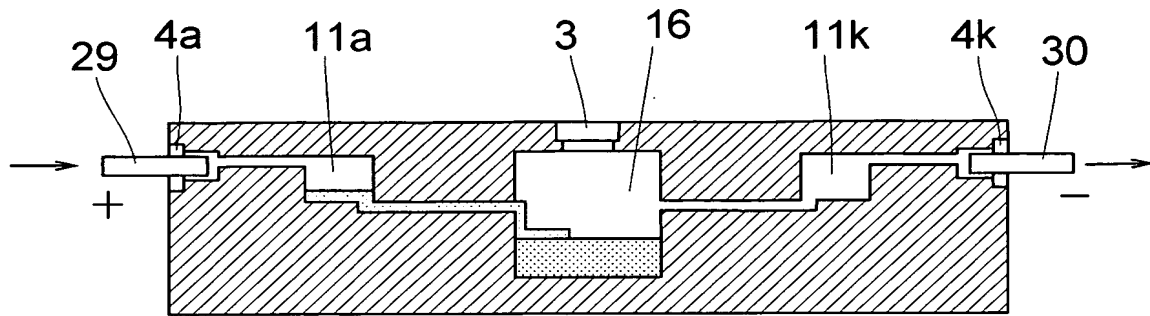
【図 7】



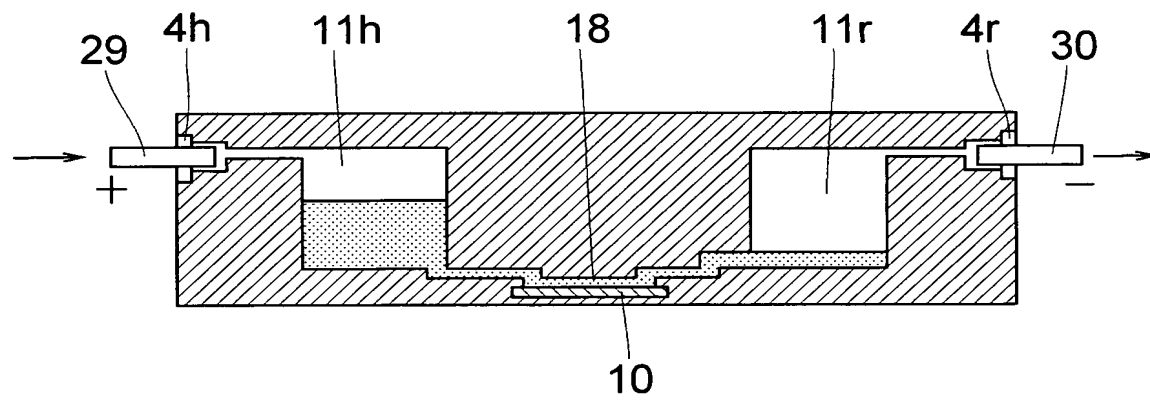
【図 8】



【図 9】



【図 10】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 溶液貯蔵部分のチャンバ内の試薬が反応部分のチャンバに確実に流れ込むようにする。

【解決手段】 溶液が入った溶液貯蔵部分 2 のチャンバ 6 には切欠き 8 を形成した弁棒 7 が挿入され、2 個の O リング 9 により保持され、溶液チャンバ 6 の下部はアルミ箔シート 1 0 により塞がれている。

検査者が血液等の液体状の検体を検体入口から注入し、工具用ニードル 1 3 の短い押圧棒 1 3 a を用いて弁棒 7 を押し込んで、アルミ箔シート 1 0 を破ると、溶液がチャンバ 6 からチャンバ 1 1 に移動する。この状態では切欠き 8 は 2 個の O リング 9 の上下につながっているため、チャンバ 6 内と外部とで空気が通じ溶液は円滑に移動する。

【選択図】 図 4

特願 2 0 0 3 - 0 9 4 2 4 2

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 1 0 0 7]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 3 0 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都大田区下丸子 3 丁目 3 0 番 2 号

氏 名

キャノン株式会社